DER EINFLUSS VON HUMANEM CHORIONGONADOTROPIN (HCG) AUF DIE ENZYMAKTIVITÄT DER NEBENNIERENRINDE BEI DER MÄNNLICHEN RATTE

INAUGURALDISSERTATION

zur Erlangung der Doktorwürde der

HOHEN MEDIZINISCHEN FAKULTÄT
DER UNIVERSITÄT DES SAARLANDES

vorgelegt von

BIRGIT WEBER

Saarbrücken
1973

Aus der Urologischen Klinik der Universität des Saarlandes
Direktor: Professor Dr. med. C.E. Alken

DER EINFLUSS VON HUMANEM CHORIONGONADOTROPIN (HCG) AUF DIE ENZYMAKTIVITÄT DER NEBENNIERENRINDE BEI DER MÄNNLICHEN RATTE

INAUGURAL-DISSERTATION
zur Erlangung der Doktorwürde der
HOHEN MEDIZINISCHEN FAKULTÄT
DER UNIVERSITÄT DES SAARLANDES

1973

vorgelegt von
Birgit Weber
geb. am 10.3.1946 in Homburg-Saar

Dekan: Prof. Dr. med. G. A. Jutzler
Referent: Professor Dr. med. J.G. Moormann

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Die mündliche Promotionsprüfung wurde am 31.10.1973 abgelegt.

MEINEN LIEBEN ELTERN

IN DANKBARKEIT GEWIDMET

INHALTSVERZEICHNIS

A. EINLEITUNG

B. LITERATURÜBERBLICK

C. EIGENE UNTERSUCHUNGEN

I. Problemstellung

II. Versuchsanordnung

1. Hormonbehandlung der Tiere
2. Untersuchungsgang
3. Methodik der histochemischen Untersuchungen
4. Auswertung der histochemischen Untersuchungen

D. ERGEBNISSE DER HISTOCHEMISCHEN UNTERSUCHUNGEN

E. DISKUSSION DER ERGEBNISSE

F. ZUSAMMENFASSUNG

G. LITERATURVERZEICHNIS

A. EINLEITUNG

Das in der Plazenta gebildete Humane Choriongonadotropin ist in seiner Wirkung dem ICSH insofern sehr ähnlich, als es im Hoden vorwiegend die Leydigschen Zwischenzellen zur Testosteronbildung anregt. Therapeutisch wird es beim Kryptorchismus zur Förderung des Descensus testis angewandt. Im Ovar wirkt es auf die Hiluszellen und in zweiter Linie auf die Follikel selbst ein.(STERNBERG, SEGALOFF and GASKILL (1953).)

Von BOTELLA LLUSIA (1953) wird vermutet, daß zusätzlich die NNR zu den Erfolgsorganen des HCG gehört. Dies könnte in Anbetracht der engen Beziehungen zwischen NNR und Gonaden bezüglich ihrer chemischen, zum gemeinsamen Aufbau von Steroidhormonen führenden Tätigkeit, zutreffen. Von großer Wichtigkeit ist in diesem Zusammenhang z.B. das Ferment 3-ß-ol-Steroid-Dehydrogenase, das außer im Hoden, Ovar und Plazenta nur noch in der Steroidhormone produzierenden NNR zu finden ist. Ein 3-ß-ol-Steroid-Dehydrogenasen-Aktivitätszuwachs nach HCG-Belastung in Hoden ist verschiedentlich nachgewiesen worden.(SAMUELS und HELMREICH (1956), NIEMI and IKONEN (1962), MOORMANN (1969).)

Zur Frage, ob eine ähnliche Beeinflußbarkeit auch in der NNR möglich ist, soll in der vorliegenden Arbeit Stellung genommen werden.

B. LITERATURÜBERBLICK

FRASER und Mitarbeiter berichten erstmals 1941 über eine Steigerung der 17-keto-Steroidausscheidung nach HCG-Applikation bei gesunden Männern.

Weitere Autoren (SANTOS RUIZ, GOMEZ MAESTRO et BOTELLA LLUSIA (1951)) beschreiben späterhin eine Steigerung der 17-keto-Steroidausscheidung nach HCG-Applikation auch bei gesunden weiblichen Versuchspersonen. Dieser Effekt wird von den Autoren als eine Stimulation von LH auf die NNR gedeutet.

In der Arbeit von SEGALOFF, STERNBERG und GASKILL (1951) werden die zuletzt erwähnten Ergebnisse jedoch wieder in Frage gestellt. KELLER und HAUSER vertreten in ihrer Arbeit aus dem Jahre 1957 die Auffassung, die aus den oben erwähnten Experimenten gewonnenen Erkenntnisse seien nicht überzeugend. Sie begründen dies damit, daß das HCG ein vorwiegend gonadenstimulierendes Hormon darstellt. Sie fordern zum eindeutigen Nachweis einer NNR-Stimulation durch HCG Experimente und deren Ergebnisse an kastrierten Versuchspersonen und -Tieren. In diesem Zusammenhang können sie, wie bereits 1949 FERIN und DEVIS,bei Kastratinnen trotz hoher HCG-Dosen keine Stimulation der NNR feststellen. FERIN und DEVIS weisen sogar eine Erniedrigung der 17-keto- Steroidausscheidung nach.

In gleicher Weise äußern sich SAYERS und SAYERS in ihrer Arbeit aus dem Jahre 1948.

1952 berichtet BOTELLA LLUSIA über proliferative Veränderungen der sekundären Sexualorgane nach HCG-Applikation bei kastrierten Mäusen. Er spricht in dieser Arbeit erstmals von einer sogenannten "Sexualzone" der NNR, deren Androgenproduktion durch das ICSH stimuliert werden soll. Wir begegnen hier erstmals dem Begriff der NNR als "dritte Gonade". Gerade dieser Begriff wird 1957 von KELLER und HAUSER, 1960 von DÖRNER und anderen Autoren MATTIOLI und MONETA (1962), strengstens abgelehnt. Die Autoren sprechen dem HCG jegliche stimulierende Beeinflussung der Androgenproduktion in der NNR ab.

DICZFALUSY, HOLMGREN und WESTMAN weisen 1950 nach, daß eine Androgenproduktion der NNR trotz HCG-Applikation nicht möglich ist, wenn die kastrierten Versuchstiere vorher hypophysektomiert werden. Die Autoren gewinnen daraus die Erkenntnis, daß das HCG in seiner Wirkung auf die Anwesenheit des ACTH angewiesen ist.

Eine gleichlautende Publikation liegt von GREEP und Mitarbeitern bereits aus dem Jahre 1942 vor. Auch BEHRMAN und NIEMANN berichten 1955, daß das HCG bei ausgeschalteter Hypophyse und ausgeschalteter NN keinen stimulierenden Effekt selbst auf die Gonaden haben kann. Zur genauen Durchleuchtung der vorliegenden Problematik

scheint insbesondere der Wirkungsmechanismus des ACTH von großer Bedeutung zu sein. 1936 finden DAVIDSON und MOON bei kastrierten jungen Ratten eine Vergrößerung der Samenblase und Prostata nach Applikation von ungereinigten ACTH-Präparaten. Sie führen dieses Phänomen auf eine Steigerung der Sexualsteroidproduktion der NNR zurück.

Später kann TUCHMANN-DUPLESSIS (1956) diese Ergebnisse bei Anwendung von gereinigten ACTH-Präparaten nicht bestätigen. 1954 berichten KELLER und HAUSER über ACTH-Belastungsversuche an sechs chirurgisch kastrierten Frauen. Sie können dabei durch die Erhöhung der 17-keto-Steroidausscheidung eine Sexualhormonproduktion in der NNR nachweisen.

Sie stehen dabei im Gegensatz zu Autoren, die für die Steuerung der Produktion von androgenen Substanzen in der NNR einzig das ICSH bzw. LH verantwortlich machen. (REIFENSTEIN, FORBES, ALBRIGHT, DONALDSON, CARROLL (1945).)

Wieder andere Autoren glauben an eine Steuerung der Androgenproduktion in der NNR sowohl durch das ACTH als auch durch das LH.(HOWARD, SNIFFEN, SIMMONS, ALBRIGHT (1950), KOVACIC (1958).)

DÖRNER kann in seinen Versuchen aus dem Jahre 1960 an kastrierten Rattenmännchen unter Applikation von HCG, ACTH und von HCG und ACTH kombiniert, keine nachweisbare Wirkung auf die Sexualhormonproduktion der NNR feststellen. Gleiche Ergebnisse werden bereits 1951 von BORELL, DICZFALUSY und WESTMAN bei hypophysek-

tomierten und gonadektomierten Versuchstieren beschrieben.

1959 beobachten HAMMERSTEIN, FOERDER und OBRECHT im Rahmen einer klinischen Überprüfung des HCG-Testes an gesunden Frauen und Männern einen "uncharakteristischen" Anstieg der 17-Ketosteroide am 2. und 3. Tag. Da gleichzeitig die Corticoidausscheidung im Harn vermehrt ist, drängt sich bei ihnen der Gedanke einer Stress-bedingten NNR-Reaktion auf. Auch wird eine mögliche HCG-Verunreinigung mit Corticotropin als eventuelle Ursache der oben beschriebenen NNR-Reaktion beschrieben. (OPSAHL und Mitarbeiter (1951).)

KNORR (1963) vertritt in seiner Arbeit "Über die Wirkung von HCG auf den Steroidhormonstoffwechsel des Kindes" die Auffassung, daß eine NNR-Stimulation durch HCG ausgeschlossen sei. "Die 17-Hydroxycorticoide und die 11, 17-Diketosteroide, welche ausschließlich adrenaler Herkunft sind, erfahren unter HCG keine gerichtete Veränderung."

1957 glaubt LANMAN, die bei menschlichen Foeten und Foeten einiger Primaten vorkommende Vergrößerung der NN auf eine HCG-Wirkung der Plazenta zurückführen zu können.

In einer weiteren Veröffentlichung (1959) mit DINERSTEIN beschreibt LANMAN eine eindeutig adrenotrope Wirkung des HCG bei hypophysektomierten Ratten. Es handelt sich dabei ihrer Ansicht nach jedoch nicht um eine direkte Einwirkung, sondern um einen indirekten Effekt über das Testosteron der Hoden.

Die daraufhin durchgeführte Untersuchung, DINERSTEIN and LANMAN (1961), sollte die Möglichkeit eines direkten Einflusses von HCG auf die Rattennebenniere klären. Das Ergebnis der Untersuchung zeigt, daß eine direkte Wirkung des HCG auf die NNR bei Ratten nicht besteht. Ein indirekter Einfluß über das Testosteron ist, wie oben bereits erwähnt, von zahlreichen Autoren als erwiesen beschrieben worden.(KITAY (1963), FRASCHINI, GAVAZZI, GIULIANI (1965), TELEGDY, HERGENRODER and LISSAK (1966).)

Die Schwierigkeit des Problems wird dadurch aufgezeigt, daß BÜHNER, RINDT und OERTEL (1967) im Gegensatz zu dem oben gesagten doch eine direkte Wirkung von Gonadotropin auf die NNR feststellen können.

Die in unseren Versuchen gewonnenen Befunde sollen in der vorliegenden Arbeit mit histochemischen Methoden ausgewertet werden. Es erscheint angebracht, einen kurzen Abriß über Methodik und historische Entwicklung der histochemischen Untersuchungsmethoden zu geben.

Zahlreiche Veröffentlichungen der letzten Jahre haben gezeigt, daß der histochemische Nachweis von Fermenten über die Stoffwechselfunktion der NNR wertvollen Aufschluß gibt. Gegenüber bekannten Testmethoden wie z.B. Nachweis der 17-keto-Steroide im Harn erlaubt uns diese Methode sowohl den Nachweis der Enzymaktivität als auch der Enzymlokalisation in den verschiedenen Zonen der NNR.

Bekanntlich sind die unspezifischen Fermente, Laktat-Dehydrogenase, Glucose-6-Phosphat-Dehydrogenase, DPN- und TPN-Diaphorase indirekt an der Biosynthese von Steroidhormonen beteiligt. Sie geben zwar Aufschluß über die Gesamt-

aktivität der Rinde, liefern jedoch durch ihre Anwesenheit noch keinen direkten Beweis der Steroidhormonbildung. (SYMINGTON et al. (1955).)

1951 gelingt SAMUELS und Mitarbeitern erstmals der biochemische Nachweis eines Enzymes in der NNR und auch anderen endokrinen Geweben, dem er eine "basic role" in der Steroid-Hormonbildung zuschreibt. Diese NAD-abhängige "Steroid-3ß-ol-Dehydrogenase" wird 1958 von WATTENBERG, 1959 von LEVY und Mitarbeitern erstmals histochemisch in allen Zellen, die zur Steroidhormonbildung befähigt sind, nachgewiesen.

Allein die Anwesenheit dieser Steroid-3ß-ol-Dehydrogenase im histologischen Material erlaubt die Annahme einer Steroidhormongenese. (JIRASEK und RABOCH (1963).)

Die von der Steroid-3ß-ol-Dehydrogenase bewirkten Substratumwandlungen sollen in dem folgenden Übersichtsschema deutlich gemacht werden.

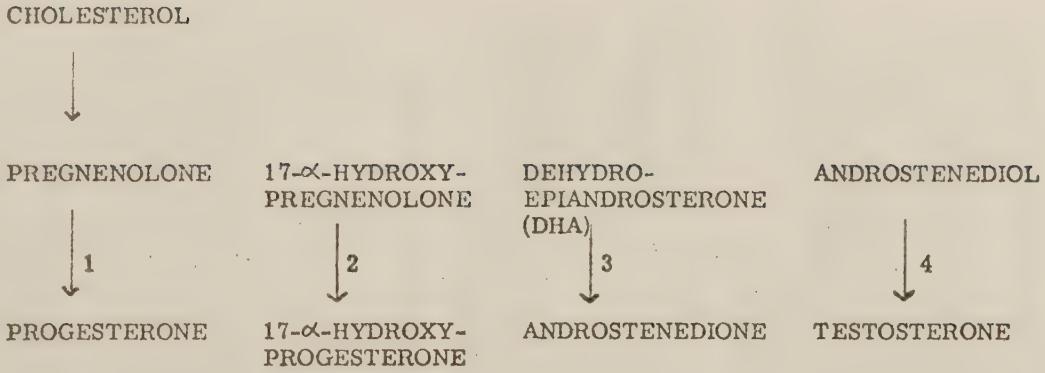


Abb. I
Theoretisch bewirkt die Steroid-3ß-ol-Dehydrogenase die Substratumwandlungen 1 - 4.
(aus NIEMI and BAILLIE (1965), ACTA ENDOCRINOLOGICA 48, (1965): 424)

Das früheste Auftreten dieser Steroid-3ß-ol-Dehydrogenase in der menschlichen NNR wird von BLOCH et al. (1962), NIEMI und BAILLIE (1965) mit der 8. Fetalwoche angegeben. Die genaue Lokalisation des Fermentes gibt ALLEN (1960) bei neugeborenen Mäusen in der Zona glomerulosa und Zona fasciculata an. Bezüglich der Aktivität kann in den ersten Wochen nach der Geburt eine deutliche Steigerung nachgewiesen werden. In gleicher Weise steigert sich die Aktivität der direkt nach der Geburt sehr schwachen DPN-Diaphorase (nach neuerer Nomenklatur (KARLSON) = Lipoyl-Dehydrogenase) im Laufe von drei Monaten beträchtlich.(ALLEN (1959).)

RUBIN und DORFMAN machen 1957 die interessante Feststellung, daß gerade bei Ratten in der NNR eine bedeutend höhere Steroid-3ß-ol-Dehydrogenase-Aktivität zu beobachten ist als bei anderen Versuchstieren. Auch LEVY et al. (1959) berichten diesbezüglich über hohe Aktivität dieses Enzymes.

CAVALLERO und CHIAPPINO befassen sich in ihrer 1965 erschienenen Arbeit mit der genauen Lokalisation der Enzyme in der NNR männlicher Ratten. Sie beobachten dabei eine gleichmäßige Verteilung der Enzymaktivitäten in allen Rindenabschnitten. Eine sehr große Aktivität zeigt die Steroid-3ß-ol-Dehydrogenase. Lediglich in einer subglomulären Zone, die interessanterweise lipoidfrei ist, wird das Fehlen dieses Enzymes beschrieben.

Außer den oben beschriebenen Enzymen wird von einigen Autoren über eine noch größere Aktivität der NAD-abhängigen Laktat-Dehydrogenase und Glucose-6-Phosphat-

Dehydrogenase in allen Zonen der Rattennebenniere berichtet. (LEVY, DEANE, RUBIN (1959), KUHN and KISSANE (1964).)

Im Gegensatz zur gleichmäßigen Enzymverteilung in allen NNRindenschichten bei der Ratte ist speziell die Enzymaktivität der Steroid-3ß-ol-Dehydrogenase bei der menschlichen NNR streng zonal gegliedert. Die stärkste Aktivität dieses Fermentes ist in der stark mit Lipoiden beladenen Zona fasciculata lokalisiert. In der Zona reticularis fehlt das Ferment vollständig. (CAVALLERO and CHIAPPINO (1965).)

SAMUELS und HELMREICH deuten 1956 darauf hin, daß die gonadotrope Funktion des Hypophysenvorderlappens für die Aktivitätsentfaltung der Steroid-3ß-ol-Dehydrogenase und damit für den Beginn der Steroidhormonbildung notwendig ist. Sie können in diesem Zusammenhang bei hypophysektomierten Ratten einen Aktivitätsabfall des Fermentes in der NNR sowie eine Rindenatrophie nachweisen. Die bei diesen Tieren vorgenommene HCG-Applikation erbrachte zwar eine Verbreiterung der Rinde, konnte jedoch keinen Aktivitätszuwachs bewirken. Die Autoren deuten dies als eine Aktivierung anderer Enzymsynthesen, sie nennen dies eine "adaptive Enzymsynthese". Da die gonadotrope Wirkung auf die Steroid-3ß-ol-Dehydrogenaseaktivität des Hodens erwiesen ist, dieselbe bei der NN jedoch ausbleibt, ergibt sich für die Autoren der Schluß, daß eine generelle Gonadotropinwirkung auf die Steroid-3ß-ol-Dehydrogenase nicht gegeben ist.

Im Unterschied zu den obigen Autoren verneinen LEVY, DEANE und RUBIN (1959) nach Hypophysektomie männlicher

Ratten einen sofortigen Abfall dieser Enzymaktivität. Erst nach Atrophierung der inneren Zonen der NNR weisen sie histochemisch einen Aktivitätsabfall nach. In den Zellen der Zona glomerulosa und der äußeren Zona fasciculata wird von den Autoren keine Atrophie und keine Abnahme dieser Steroid-3ß-ol-Dehydrogenase-Aktivität festgestellt.

Die Laktat-Dehydrogenase bleibt auch nach Hypophysektomie in allen drei Zonen der RattenNN nachweisbar. Nachdem die Versuchstiere mit ACTH behandelt worden sind, kommt es erst nach vollständiger Zellrestitution zur völligen Wiederherstellung der adrenocorticalen Steroid-3ß-ol-Dehydrogenaseaktivität. Die Autoren sehen darin keine unbedingte Abhängigkeit dieses Enzymes von der Hypophyse. Ebenso ist eine fortwährend sekretorische Aktivität nicht erwiesen. So können auch RUBIN und DORFMAN (1957) bei jungen gesunden Meerschweinchen unter ACTH-Applikation keinen Aktivitätszuwachs der Steroid-3ß-ol-Dehydrogenase bemerken.

GREENBERG and GLICK (1960) beobachten bei männlichen Ratten unter ACTH-Applikation eine Aktivitätszunahme der Glucose-6-Phosphat-Dehydrogenase.

C. EIGENE UNTERSUCHUNGEN

I. Problemstellung

Die Rolle der NNR als "dritte Gonade"(BOTELLA LLUSIA (1952))ist, wie im Literaturüberblick dargestellt, bis zum heutigen Zeitpunkt immer noch sehr umstritten. Insbesondere besteht noch Unklarheit darüber, ob das Choriongonadotropin einen Einfluß auf die Nebennierensteroidbildung - (möglicherweise auf die adrenalen Androgene) - ausübt.

MOORMANN (1969) konnte in seinen histochemischen Untersuchungen an experimentell retinierten und scrotalen Hoden männlicher junger Ratten eine allgemeine Steigerung der Enzymtätigkeit, insbesondere der Steroid-3ß-ol-Dehydrogenase, unter HCG-Belastung feststellen.

Im Rahmen dieser Untersuchungen erschien es interessant, die Wirkung der HCG-Behandlung auch am Fermentmuster der NNR dieser experimentell einseitig kryptorchen Ratten zu prüfen.

In der vorliegenden Arbeit soll deshalb histochemisch das Verhalten verschiedener, für die Steroidgenese notwendigen Enzyme, in der NNR dieser Versuchstiere untersucht werden.

Im einzelnen ergaben sich dabei folgende Problemstellungen:

1. Wie beeinflußt das humane Choriongonadotropin (HCG) in der NNR die Aktivität einiger für die

Steroidsynthese notwendigen Enzyme?

2. Besteht eine direkte Abhängigkeit der Enzymaktivität von der HCG-Dosis?

3. Welche funktionelle Deutung erlauben die an der NNR auftretenden histochemischen Befunde?

II. Versuchsanordnung

Die eigenen Untersuchungen wurden an demselben von MOORMANN wie folgt beschriebenen Tiermaterial durchgeführt.

"Bei männlichen weißen Ratten (Stamm P.B.B.I.) wurde im Alter von 10 Tagen ein einseitiger experimenteller Kryptorchismus erzielt. In Aethernarkose wurde jeweils der linke Leistenkanal eröffnet; der linke Hoden, sofern er schon im Scrotum lag, in die Bauchhöhle reponiert. Der Leistenkanal und der Eingang zum Scrotum wurde verschlossen, um den linken Hoden am scrotalen Abstieg zu hindern."

1. Hormonbehandlung der Tiere

"Nach vollständiger Wundheilung wurden die Tiere selektiert. In die Versuchsanordnung wurden ausschließlich solche Ratten genommen, bei denen nur der rechte Hoden im Scrotum lag. Insgesamt wurden acht Gruppen mit jeweils zehn Tieren gebildet."

Bei dieser Versuchsanordnung wurden zunächst die Nebennieren der Ratten in keiner Weise beeinträchtigt. Das endokrine System konnte sich normal entwickeln, da primär nicht geschädigte Hoden (experimenteller Kryptorchismus der Ratte) trotz abdomineller Rückverlagerung weiterhin Testosteron bilden. (MOORMANN (1969).)

"Die darauffolgende Choriongonadotropinbehandlung (HCG) der Tiere in Einzel- und Gesamtdosis, die Häufigkeit der Injektionen und die Behandlungsdauer in Bezug auf das Alter der Ratten ergeben sich aus folgender Aufstellung:"

Gruppe	Alter bei Behandlungsbeginn	Einzeldosis HCG	Injektion/Woche Gesamtanzahl Injektionen	Gesamtdosis HCG I.E.	Alter bei Behandlungsende
0	21 Tage	Kontrollgruppe 1			42 Tage
1	21 Tage	50	2 / 6	300	42 Tage
2	21 Tage	100	2 / 6	600	42 Tage
3	21 Tage	150	2 / 6	900	42 Tage
4	21 Tage	200	2 / 6	1200	42 Tage
5	21 Tage	250	2 / 6	1500	42 Tage
6	21 Tage	300	2 / 6	1800	42 Tage
7	21 Tage	Kontrollgruppe 2			42 Tage

Tabelle 1:

Alter der Ratten bei Behandlungsbeginn und bei Abschluß der Behandlung; Angaben über die Einzel- und Gesamtdosis des Choriongonadotropins und über die Injektionszahl/Wochen und innerhalb des ganzen Behandlungszeitraums.

(aus MOORMANN, HISTOCHEMISCHE UNTERSUCHUNGEN BEI DER LAGEANOMALIE DES HODENS NACH BEHANDLUNG MIT HUMANEM CHORIONGONADOTROPIN (HCG) IM TIEREXPERIMENT UND AM KLINISCHEN KRANKENGUT,
HABILITATIONSSCHRIFT 1969 HOMBURG-SAAR, im Druck.
Mit Unterstützung der Deutschen Forschungsgemeinschaft
Bad Godesberg.

"Es wurden zwei Kontrollgruppen gebildet, die nicht mit Choriongonadotropin behandelt wurden."

2. Untersuchungsgang

"5 Tage nach Beendigung der HCG-Behandlung wurde in Abständen von zwei Wochen aus jeder Gruppe ein Tier getötet, bei dem nur der rechte Hoden im Scrotum lag und der linke im Abdomen vorgefunden wurde."

Die Nebennieren wurden entnommen, von ansitzendem Fettgewebe freipräpariert und sofort im Kryostaten bis auf - 20° C eingefroren.

"Die histochemischen Untersuchungen wurden bei 47 Tage alten Ratten begonnen und bis zum Alter von 103 Tagen fortgesetzt."

"Von dem eingefrorenen Nebennierengewebe wurden im Kryostaten Gefrierschnitte in der Dicke von 12 µ angefertigt. Diese Schnitte wurden auf Deckgläser gebracht, an der Luft getrocknet und danach sofort mit dem entsprechenden Substrat inkubiert."

Folgende Fermente wurden bestimmt:

1) Lipoyl-Dehydrogenase
2) Glucose-6-Phosphat-Dehydrogenase
3) Laktat-Dehydrogenase
4) 3ß-ol-Steroid-Dehydrogenase
5) Lipoide.

3. Methodik der histochemischen Untersuchung

Die histochemischen Untersuchungen wurden nach folgenden Methoden durchgeführt:

1) Lipoyl-Dehydrogenase mit NADH (NAD = Nicotinamid-adenin-dinucleotid = DPN = Diphosphopyridin-

mucleotid) als Substrat in Veronal-puffer (0, 1 M) mit einem pH von 7, 4 nach SCARPELLI, HESS und PEARSE (1958).

2) Glucose-6-Phosphat-Dehydrogenase mit Glucose-6-Phosphat als Substrat in einer Veronalpufferlösung (0, 1 M) mit einem pH von 7, 4 nach PEARSE (1960).

3) Lactat-Dehydrogenase mit Na-Lactat (0, 5 N) als Substrat in einer Veronal-pufferlösung (0, 1 M) mit einem pH von 7, 4 nach PEARSE (1960).

4) Steroid-3ß-ol-Dehydrogenase mit Dehydroepiandrosteron als Substrat in einer Phosphat-Pufferlösung (0, 12 M) mit einem pH von 8 nach WATTENBERG (1958).

Bei diesen angegebenen histochemischen Methoden wurde Nitro-BT[x)] als Akzeptor genommen.

5) Lipoide mit der Scharlachrot-Färbung nach ROULET (1948).

4. Auswertung der histochemischen Untersuchungen

Die Beurteilung der angefertigten Präparate erfolgte nach der Intensität der Fermentaktivität. Zur übersichtlichen Dokumentation sollen Kreissegmente mit unterschiedlicher schwarz-weiß-Felderung verwandt werden.

x) Nitro-BT: 2, 2-di-p-nitrophenyl-5, 5-di-phenyl-3, 3-(3, 3-dimethoxy-4, 4-biphenylen) ditetrazolium chlorid.

Dabei bedeutet:

= keine Aktivität

= sehr starke Aktivität

Die auftretenden Zwischenstufen werden je nach Stärke durch verschieden große schwarze Kreissegmente dargestellt.

D. ERGEBNISSE DER HISTOCHEMISCHEN UNTERSUCHUNGEN

Die Fermentaktivitäten in den einzelnen Zonen der NNR wurden getrennt ausgewertet.

I. LIPOYL-DEHYDROGENASE

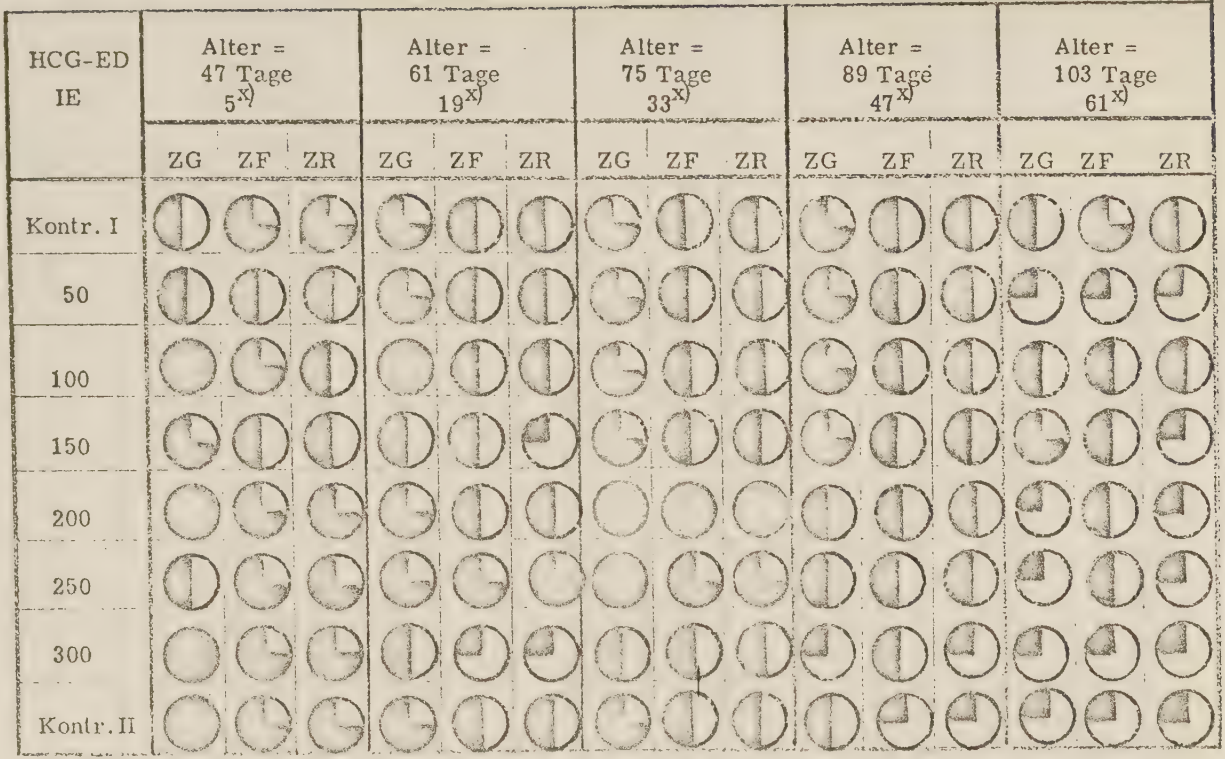
Die Lipoyl-Dehydrogenase wurde in unseren Versuchen zur Beurteilung der Gesamtaktivität der NNR bezüglich der NAD-abhängigen Dehydrogenasen bestimmt. Sie ist mit NADH als Substrat indirekt an der Steroidhormonbildung beteiligt.

LIPOYL-DEHYDROGENASE

Bei Betrachtung der Kontrollgruppen zeigt die Lipoyl-Dehydrogenase (Tab. 2) in allen Zonen der NNR eine lebhafte Aktivität. Dabei erscheint die Aktivität in der Zona glomerulosa am stärksten ausgeprägt. Mitunter beobachtet man zwischen der Zona glomerulosa und Zona fasciculata eine Zona intermedia, in der stellenweise keine Aktivität vorhanden ist. Der Übergang von der Zona fasciculata zur Zona reticularis ist fließend. Es besteht Intensitätsgleichheit. Wie die Kontrollgruppe I zeigt, ändert sich die Intensität mit zunehmendem Alter der Ratten und damit zunehmendem zeitlichen Abstand von der HCG-Behandlung nicht wesentlich. Zwischen den Kontrollgruppen I und II findet sich bei den älteren Versuchstieren eine kleine Abweichung in der Fermentaktivität, die u.E. zu vernachlässigen ist.

Nach der HCG-Belastung treten dosisabhängige Aktivitätsveränderungen auf. Eine Zunahme der Ferment-

aktivität zeigt sich schon bei einer Einzelbelastung von 100 I E HCG und wird bei einer Dosiserhöhung von 200 I E und 250 I E HCG sehr groß. Die drei Zonen zeigen hierbei unterschiedliche Intensitätsmaxima, wobei die Zona glomerulosa bevorzugt reagiert. Mit zunehmendem zeitlichen Abstand von der HCG-Behandlung nimmt die Intensität ab und gleicht sich den Werten der Kontrollgruppen an. Dabei ist auffallend, daß der Intensitätsverlust bei der niedrigen Dosis viel früher eintritt. Die weitere Dosiserhöhung von 300 I E HCG wird kaum mehr mit einer Aktivitätssteigerung des Enzymes beantwortet, was im Sinne der Leistungsgrenze des Organs gedeutet werden könnte.



x) = Tage nach Behandlungsende

Tab. 2

Graphische Darstellung der Lipoyl-Dehydrogenase-Aktivität in den drei Zonen der NNR einseitig kryptorcher Ratten in Abhängigkeit von der Höhe der HCG-Applikation und in der zeitlichen Kontrolle.

ZG = Zona glomerulosa, ZF = Zona fasciculata, ZR = Zona reticularis

II. GLUCOSE-6-PHOSPHAT-DEHYDROGENASE

Glucose-6-Phosphat-Dehydrogenase ist ein NAD-abhängiges Ferment des Pentosephosphatzyklus. Dieser ist in der NNR besonders aktiv, (GLOCK and Mc. LEAN (1954)) und wird auf 10 % des gesamten Glucosestoffwechsels der Drüse geschätzt. (WEAVER and LANDAU (1963).)

Dieser Zyklus soll nach Meinung einiger Autoren, wie HAYNES and BERTHET (1957), GRANT (1960), mit der Steroidsynthese in Verbindung stehen, da aus ihm reduziertes Triphosphopyridinnucleotid (TPNH) hervorgeht. TPNH ist ein Cofaktor bei verschiedenen Schritten der Rindenhormonsynthese. Bei normalen Ratten ist dieses Enzym über die drei Zonen der NNR verteilt.

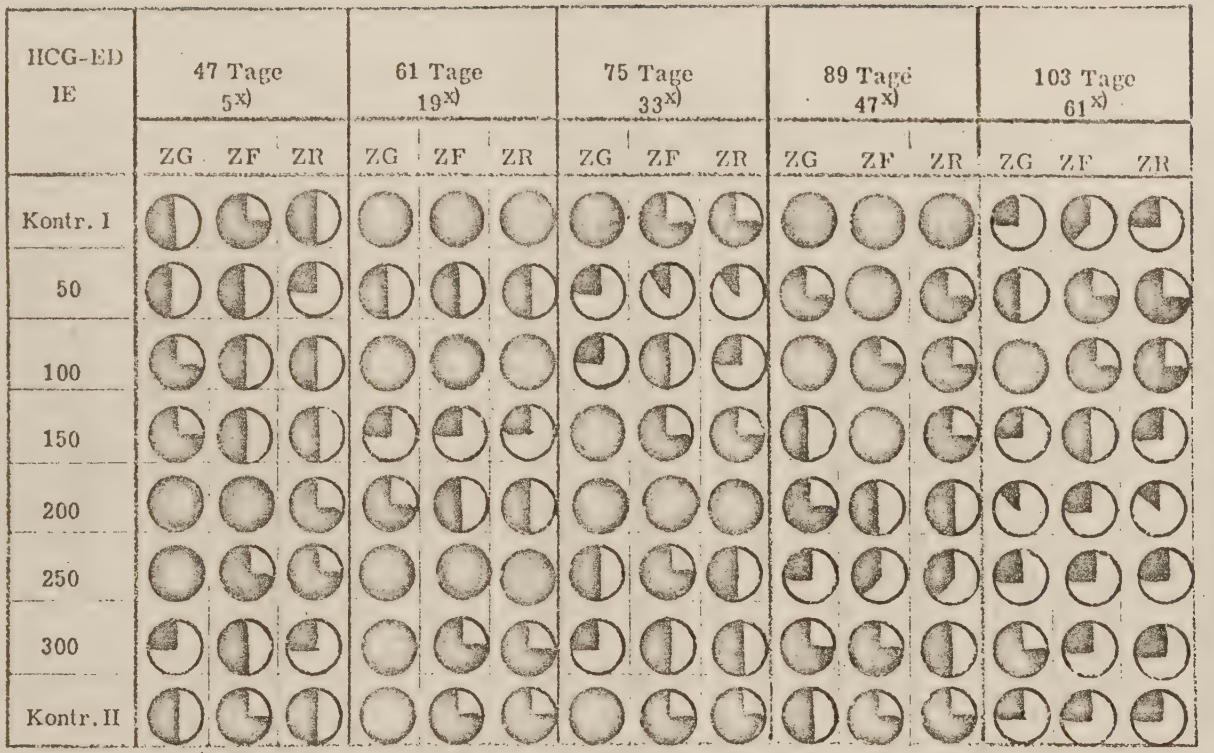
GLUCOSE-6-PHOSPHAT-DEHYDROGENASE

Die Glucose-6-Phosphat-Dehydrogenase (Tab. 3) zeigt von allen besprochenen Enzymen bei den Kontrolltieren die höchste Aktivität in allen drei Zonen der NNR. Die vorher bereits beschriebene Zona intermedia ist auch hier vorhanden. Sie weist auch hier das Charakteristikum auf, stellenweise ohne Aktivität zu sein. Der Übergang der Zona fasciculata zur Zona reticularis zeigt sich auch bei dieser Untersuchung verwaschen. In der zeitlichen Kontrolle I und II findet sich erst bei den älteren Kontrolltieren eine Enzymaktivitätsänderung in Form einer Aktivitätsabnahme.

Wir beobachten bei diesem Ferment nach HCG-Applikation von 50 I E bis 150 I E gewisse Einzelverzögerun-

gen in der Aktivitätszunahme, die in unterschiedlichem Alter der Ratten auftreten.

In Anbetracht der sehr hohen Ausgangsaktivität sind Aktivitätssteigerungen nach der HCG-Belastung in den verschiedenen Zonen und in der zeitlichen Kontrolle sehr schwer zu erkennen. Trotzdem gewinnt man den Eindruck, daß nach hohen Hormondosen von 200 I E und 250 I E mitunter die Aktivität mit zonaler Unterschiedlichkeit die hohen Ausgangswerte der Kontrollgruppen übersteigt. Mit zunehmendem zeitlichen Abstand von der HCG-Behandlung nimmt die Intensität in gleicher Weise wieder ab, wie es auch bei der Lipoyl-Dehydrogenase zu erkennen war. Nach höchster Dosierung von 300 I E HCG ist kein Aktivitätszuwachs mehr ersichtlich, die Werte liegen vielmehr sogar unter den Ausgangswerten der Kontrollgruppen. Auch hier scheint die vorher beschriebene Leistungsgrenze erreicht zu sein.



x) = Tage nach Behandlungsende

Tab. 3

Graphische Darstellung der Glucose-6-Phosphat-Dehydrogenase-Aktivität in den drei Zonen der NNR einseitig kryptorcher Ratten in Abhängigkeit von der Höhe der HCG-Applikation und in der zeitlichen Kontrolle
ZG = Zona glomerulosa, ZF = Zona fasciculata, ZR = Zona reticularis

III. LAKTAT-DEHYDROGENASE

Die NAD-abhängige Laktat-Dehydrogenase ist am Glycidstoffwechsel beteiligt. Ihre Aktivität ist an die Mitochondrien gebunden und in allen Zellen nachweisbar(JIRASEK und RABOCH (1963).) In normalen Rattennebennieren weist dieses Enzym eine höhere Aktivität auf als die Steroid-3ß-ol-Dehydrogenase.(LEVY, DEANE and RUBIN (1959).)

Im Gegensatz zu diesen Befunden war bei den eigenen Versuchen die Anfärbbarkeit dieser Laktat-Dehydrogenase so gering und farblich uncharakteristisch, daß sie auf eine Aktivität zu schließen uns nicht erlaubte. Dies gilt sowohl für die Kontrollgruppen als auch für die einzelnen Versuchsreihen.

Ein technischer Fehler konnte ausgeschlossen werden, da sich die im Rahmen der Parallelarbeit von MOORMANN (1969) zu untersuchenden Hoden dieser Versuchstiere im gleichen Präparat intensiv anfärbten.

Somit entfällt für dieses Ferment eine tabellarische Übersicht.

IV. STEROID-3ß-ol-DEHYDROGENASE

Das Fermentmuster der NAD-abhängigen Steroid-3ß-ol-Dehydrogenase war für uns von besonderem Interesse. Dieses Enzym mit DHA (Dehydroepiandrosteron) als Substrat bewirkt die S.10 beschriebene Substratumwandlung. (NIEMI and BAILLIE (1965).)

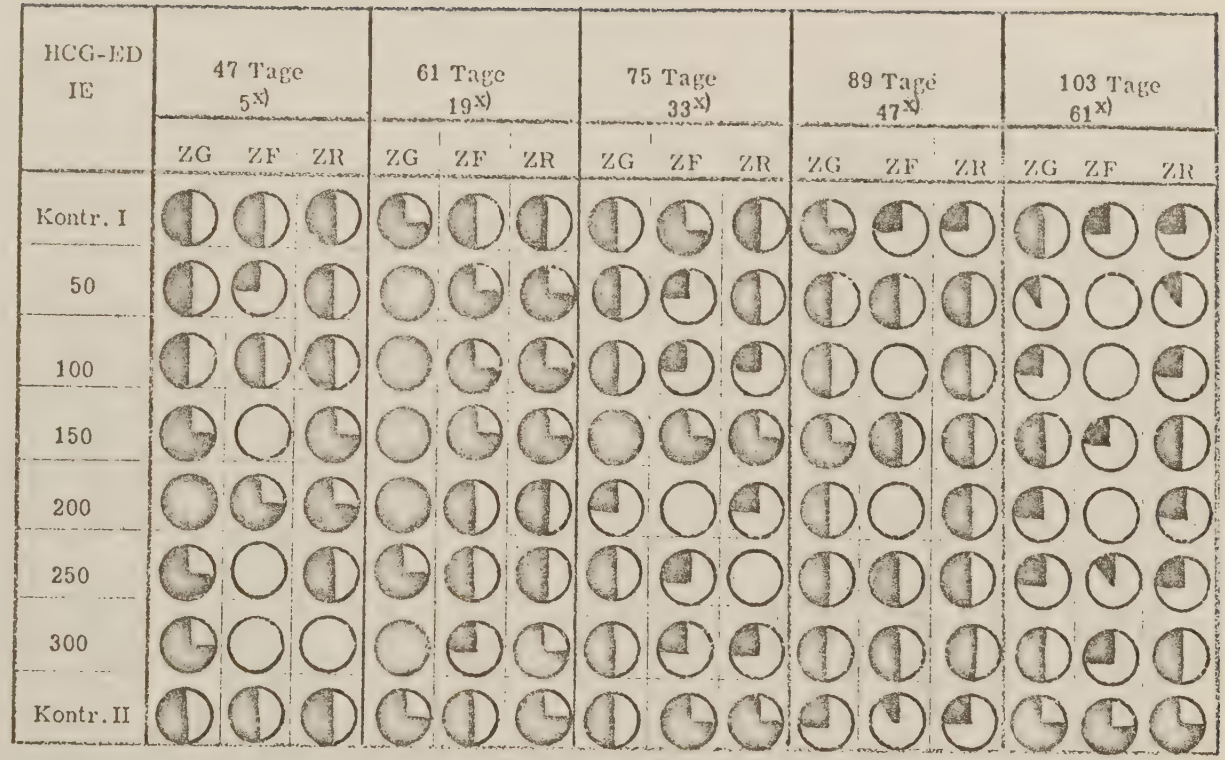
Die in den Kontrollgruppen beobachtete Aktivität der Steroid-3ß-ol-Dehydrogenase (Tab. 4) ist als mittelstark zu bezeichnen. Im Gegensatz zu mehreren Autoren, wie LEVY, DEANE and RUBIN (1959) und CAVALLERO and CHIAPPINO (1965) konnten wir im Großteil der Fälle eine gleichmäßige Verteilung der Steroid-3ß-ol-Dehydrogenase in allen drei Zonen der NNR sowie eine enzymfreie Zona intermedia nicht nachweisen. Auch dieses Enzym zeigt bei den Kontrollgruppen im zeitlichen Verlauf bei den ältesten Tieren vereinzelt Aktivitätsabnahme.

In der Zona fasciculata und selten auch in der Zona reticularis beobachteten wir bei Dosiserhöhungen von 50 bis 300 I E HCG in einzelnen Präparaten unregelmäßig begrenzte unangefärbte und somit auch aktivitätslose Bezirke, für die keine Erklärung angegeben werden kann. Einblutungsbezirke waren nicht nachweisbar. Das Auftreten dieses Bildes konnte unter keine zeitliche Gesetzmäßigkeit gebracht werden.

Niedrige Dosen von 50 I E und 100 I E HCG bewirken kurzfristige Aktivitätsanstiege in allen drei Zonen der NNR mit wiederum einer zeitlichen Verzögerung, die

auch bei der Glucose-6-Phosphat-Dehydrogenase zu sehen war. Bei 150 I E HCG tritt der Aktivitätszuwachs früh ein und bleibt über einen langen Zeitraum bestehen. Die Zona fasciculata zeigt hier die oben beschriebene Defektbildung auf. Auch nach der Dosis von 200 I E HCG kommt es zu einem sofortigen, jedoch nur kurzdauernden, Aktivitätsanstieg mit aktivitätslosen Bezirken in der Zona fasciculata.

Die bei den übrigen Fermenten vermutete Leistungsgrenze des Organs bei Dosen von 300 I E HCG wird im vorliegenden Falle bereits nach 250 I E HCG beobachtet.



x) = Tage nach Behandlungsende

Tab. 4

Graphische Darstellung der Steroid-3ß-ol-Dehydrogenase-Aktivität in den drei Zonen der NNR einseitig kryptorcher Ratten in Abhängigkeit von der Höhe der HCG-Applikation und in der zeitlichen Kontrolle.
ZG = Zona glomerulosa, ZF = Zona fasciculata, ZR = Zona reticularis

V. LIPOIDE

Bevor im einzelnen auf die von uns gewonnenen Ergebnisse bezüglich der Lipoidverteilung eingegangen wird, sollen die von NICANDER (1952), TONUTTI (1952) erhobenen Befunde an der normalen Rattennebenniere vergleichend dargelegt werden.

NICANDER beschreibt in den Zellen der Zona glomerulosa kleine Lipoidtropfen, während die kleinen Intermediazellen kaum Lipoide enthalten. Die äußere Zona fasciculata weist sehr reichlich Fettropfen auf, im Gegensatz zu der sehr armen inneren Zona fasciculata. Ebenso wird der Lipoidgehalt der Zona reticularis als sehr niedrig angegeben. Ähnliches berichtet TONUTTI.

Im Vergleich zu diesen uns als Kontrollbefund dienenden Ergebnissen können wir über folgende Beobachtungen berichten:

Bei den Kontrollgruppen enthalten die Zellen der Zona glomerulosa kleine, mittelgroße und große Lipoidtropfen. Dazwischen liegen kleinere Komplexe lipoidfreier Zellen. Die Zona glomerulosa ist von der Zona fasciculata durch eine mitunter sehr lückenhafte lipoidfreie Zona intermedia abgegrenzt. In einigen Präparaten ist eine Zona intermedia überhaupt nicht nachweisbar. Die äußere Zona fasciculata enthält reichlich mittelgroße und große Fettropfenkonglomerate, die den Zellleib völlig ausfüllen.

In der inneren Zona fasciculata nimmt der Fettgehalt

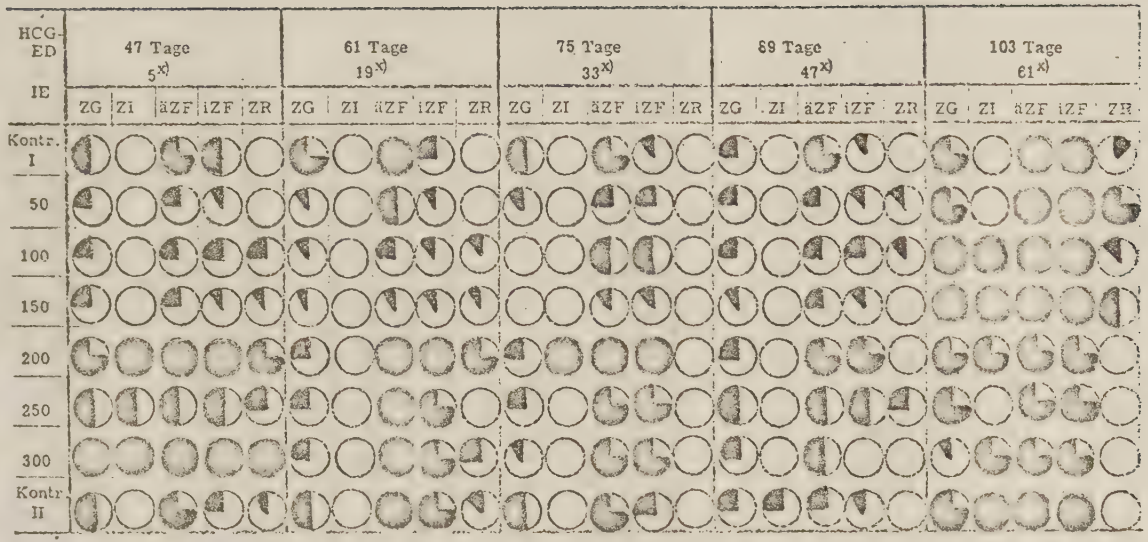
wieder deutlich ab. In der Zona reticularis können wir bei drei Kontrolltieren kleine Fettropfen beobachten.

Wie aus der Tabelle (5) zu ersehen ist, zeigt sich bei Einzeldosen von 50 I E bis 150 I E HCG eine Lipoidentspeicherung in allen Rindenschichten bis 6 Wochen post injectionem. Erst in der 8. Woche p.i. (103. Tag) weisen die Zellen der NNR wieder eine Lipoidanhäufung auf. Dabei grenzt sich die Zona glomerulosa von der Zona fasciculata durch eine fettfreie Zona intermedia ab.

Werden die Einzeldosen auf 200 I E bis 300 I E HCG erhöht, so findet sich eine deutliche Lipoidspeicherung der Zellen der NNR-Zonen. Diese Lipoidspeicherung zeigt bei diesen hohen Dosen mit zunehmendem zeitlichen Abstand von der HCG-Belastung eine geringfügige Abnahmetendenz. Die Zona intermedia zeigt ein unregelmäßiges Verhalten. Teils ist sie überhaupt nicht nachweisbar, da sie mit Lipoiden aufgespeichert ist, teils stellt sie sich völlig lipoidfrei dar.

Erwähnenswert ist, daß 8 Wochen nach der HCG-Behandlung, unabhängig von der Dosis auch bei den Kontrolltieren eine deutliche Lipoidspeicherung in allen Zonen der NNR zu bemerken ist.

Dieses Verhalten soll in der anschließenden Diskussion an Hand der eingesehenen Literatur besprochen werden.



x) = Tage nach Behandlungsende

Tab. 5

Graphische Darstellung der LIPOIDE in den Zonen der NNR einseitig kryptorcher Ratten in Abhängigkeit von der Höhe der HCG-Applikation und in der zeitlichen Kontrolle.
ZG = Zona glomerulosa, ZI = Zona intermedia, äFZ = äußere Zona fasciculata, iZF = innere Zona fasciculata, ZR = Zona reticularis

E. DISKUSSION DER ERGEBNISSE

Die uns gestellte Problematik ist von vielen Autoren, allerdings unter Verwendung andersartiger Versuchsanordnungen und mehr oder weniger großen Abwandlungen in der Fragestellung angegangen worden.

SAMUELS und HELMREICH (1956) untersuchten den Einfluß von HCG auf die 3-ß-ol-Steroid-Dehydrogenaseaktivität vergleichend in den NNR und Hoden männlicher Ratten. Zur Ausschaltung der adrenotropen und gonadotropen Funktion der Hypophysenhormone wurden die Versuchstiere hypophysektomiert. Das histochemische Ergebnis zeigte einen 3-ß-ol-Steroid-Dehydrogenaseaktivitätszuwachs in den Hoden, nicht jedoch in der NNR. Daraus wurde geschlossen, daß HCG keine generell aktivierende Wirkung auf dieses für die Steroidgenese wichtige Enzym hat.

DINERSTEIN and LANMAN (1961) applizierten kastrierten sowie kastrierten und hypophysektomierten Ratten 14 Tage lang 1000 I E HCG/die. Eine etwaige Reaktion auf die NNR sollte durch Gewichtsmessungen nachgewiesen werden. Da keine signifikanten Gewichtsänderungen auftraten, verneinten die Autoren jede direkte Wirkung von HCG auf die NNR. Sie schlossen vielmehr auch auf Grund einer früheren Untersuchung, daß nach HCG-Applikation nur dann eine adrenotrope Wirkung möglich ist, wenn funktionstüchtige Hoden vorhanden sind.

Im Gegensatz zu den erwähnten histochemischen bzw. auf Gewichtsmessungen basierenden Nachweismethoden untersuchten BÜHNER, RINDT und OERTEL (1967) auf biochemischem Wege den Einfluß von Serum-Gonadotropin auf die

Funktion der NNR bei kastrierten Meerschweinchen. Sie fanden einen Anstieg der freien 17-Ketosteroide sowie deren Sulfatide. Dies bewies für sie eindeutig eine direkte Wirkung von Gonadotropin auf die NNR.

Aus diesen drei Arbeiten, die nur unter vielen anderen (s. Literaturüberblick) zum Vergleich zitiert werden, wird deutlich, daß eine einheitliche Meinung bezüglich des Einflusses von HCG auf die NNR bis zum heutigen Zeitpunkt nicht besteht. Dies mag einerseits durch die Verschiedenartigkeiten der angewandten Methodik, andererseits durch die Art der verwandten Versuchstiere beeinflußt sein.

Die Möglichkeit einer NNR-Stimulation durch HCG kann andererseits nicht eindeutig ausgeschlossen werden.

Anknüpfend an die Problematik und abweichend von der Versuchsanordnung und methodischen Auswertung der oben genannten Arbeiten stellten wir uns die Frage, ob bei experimentell einseitig kryptorchen Ratten durch HCG-Applikation eine Steigerung bestimmter für die Steroidgenese wichtigen Enzymaktivitäten der NNR möglich sei. Falls dies zutreffen sollte, wollten wir eine eventuelle Abhängigkeit der Aktivitätssteigerung von der HCG-Applikationsdosis überprüfen. Wir verwandten einseitig kryptorche Ratten deshalb, weil unsere Untersuchungen an den NNR vergleichend zu der Arbeit MOORMANNS ablaufen sollten. MOORMANN (1969) hatte sich zur Aufgabe gestellt, die Wirkung des HCG auf primär nicht geschädigte Hoden (experimenteller Kryptorchismus der Ratte) nachzuweisen. Die Rückverlagerung des Hodens in die Bauchhöhle hat keinerlei negative Auswirkung auf die Hormontätigkeit. Somit entsprechen unsere Kontrolltiere in Bezug auf das

Endokrinum völlig gesunden Ratten. Die Funktionstüchtigkeit der Hoden bzw. das Testosteron ist nach LANMAN and DINERSTEIN (1959) für eine Beeinflußbarkeit von HCG auf die NNR von Bedeutung. Bei den einzelnen Fermenten hatten wir folgende Ergebnisse:

1. LIPOYL-DEHYDROGENASE

Nach HCG-Belastung treten dosisabhängige Aktivitätsveränderungen auf. Der Anstieg der Aktivität beginnt bei einer Einzelbelastung von 100 I E HCG und erreicht seinen Höhepunkt bei Dosen von 200 bzw. 250 I E HCG. Mit zunehmendem zeitlichen Abstand von der HCG-Belastung nimmt die Intensität ab, wobei der Intensitätsverlust bei niedrigen Dosen viel früher eintritt. Extremdosen von 300 I E HCG werden aufgrund der eintretenden Leistungsgrenze des Organs nicht mehr mit einer Aktivitätssteigerung beantwortet.

2. GLUCOSE-6-PHOSPHAT-DEHYDROGENASE

Bei diesem Ferment sind Aktivitätssteigerungen infolge der hohen Ausgangsaktivitäten schwer beurteilbar. Es zeigt sich hier jedoch deutlich, daß nach Gaben von 200 und 250 I E HCG Intensitätssteigerungen zu verzeichnen sind. Auch hier führen Extremgaben von 300 I E HCG zu einer begrenzten Leistung der NNR. Ebenso manifestiert sich ein zunehmender Intensitätsverlust bei größer werdendem Zeitabstand von der HCG-Belastung.

3. STEROID-3ß-ol-DEHYDROGENASE

Bei diesem Ferment, das für uns von besonderem Interesse ist, zeigen sich in der Zona fasciculata und reticularis nach verschiedenen Dosierungen mitunter aktivitätslose Bezirke, für die keine Erklärung abgegeben werden kann. Einblutungsbezirke waren nicht nachweisbar. Nach 50 und 100 I E HCG werden

kurzfristige Aktivitätsanstiege beobachtet, während nach 150 und 200 I E HCG sehr spontane und langanhaltende Aktivitätsanstiege deutlich werden. Bei der Dosis von 250 I E HCG tritt die ebenfalls bei den übrigen Fermenten bei 300 I E HCG beschriebene Angleichung an die Kontrollgruppen ein, die als Leistungsgrenze gedeutet wurde.

4. LIPOIDE

Da der Lipoidgehalt der NNR einen sehr empfindlichen Indikator für die Funktionsaussage darstellt, wurden in unseren Versuchen vergleichsweise die Lipoide mitbestimmt. Die Sichtbarmachung erfolgte mit der Scharlachrotfärbung nach ROULET.

Mit der Lipoidaufladung geht der Hormonaufbau in der NNR parallel, während ein Lipoidschwund eine gleichzeitige Hormongabe an das Blut bedeutet.(WALLRAFF (1963).)

So haben zahlreiche Autoren die Bedeutung der Lipoidspeicherung bzw. Entleerung im Rahmen des dynamischen Geschehens der Anpassung der NNR an eine bestimmte Situation erkannt. (ZWEMER (1936), LIEBEGOTT (1947), POPJACK (1944), LEVIN (1945).)

In Anlehnung an TONUTTI (1951, 1952, 1956) ist der Grad der Lipoidspeicherung der NNR vom momentanen Funktionszustand des Organes abhängig und kann somit als Ausdruck der jeweiligen Bedarfssituation gewertet werden.

Die Abnahme der Rindenlipoide bedeutet ganz allgemein eine funktionelle Beanspruchung der NNR im Sinne der Hormongabe.

In unseren Versuchen sehen wir eine Lipoidentspeicherung nach HCG-Dosen von 50 bis 150 I E bis 6 Wochen p.i. Dies würde nach WALLRAFF bedeuten, daß sich die NNR in einem Zustand befindet, der mit einer erhöhten Hormongabe an das Blut einhergeht.

Ab der 8. Woche p.i. beobachten wir sowohl bei den Kontrolltieren als auch bei den mit HCG behandelten Ratten auch bei hohen Dosen eine Lipoidaufladung. Dieses Phänomen könnte durch die jetzt wahrscheinlich eintretende Geschlechtsreife der Tiere erklärt werden. Denn zu diesem Zeitpunkt wird die NNR zunehmend durch die gesteigerte Aktivität der Hypophysenhormone beeinflußt. So nämlich behauptet TONUTTI (1951), der Ablauf beider Vorgänge, d.h. der Lipoidentspeicherung- und Aufladung werde durch die Menge des vom Hypophysenvorderlappen abgegebenen Corticotropin bestimmt.

Ab höheren Dosen von 200 bis 300 I E HCG ist eine Lipoidspeicherung nachweisbar, die mit zunehmendem zeitlichen Abstand von der HCG-Injektion geringgradig an Intensität verliert. Der Hypothese WALLRAFF's folgend, befände sich die NNR im Zustand eines vermehrten Hormonaufbaues. Ob möglicherweise die hohe HCG-Applikation mit dieser objektiv fassbaren Lipoidspeicherung in Zusammenhang steht, oder dies nur Ausdruck eines momentanen Funktionszustandes des Organes ist, ist vorerst nicht eindeutig abgeklärt.

Zusammenfassend erbrachten unsere histochemischen Untersuchungen für alle zur Diskussion stehenden Fermente folgende Grundtendenzen:

Wird männlichen Ratten Humanes Choriongonadotropin in Einzeldosen von 50 I E bis 300 I E während drei Wochen injiziert (Gesamtdosis s. Tab. 1, S. 17), so reagieren die an der Steroidgenese beteiligten Enzyme der NNR mit einer Änderung ihrer Aktivität. Die Steigerung der HCG-Dosis wird mit einer Zunahme der Fermentaktivität beantwortet. Das Maximum dieses Aktivitätszuwachses war durchschnittlich nach HCG-Dosen zwischen 150 I E und 200 I E zu beobachten. Nach der Höchstdosis von 300 I E, im Falle der Steroid-3ß-ol-Dehydrogenase nach 250 I E, war die NNR bezüglich ihrer Enzymaktivität auf der obersten Leistungsgrenze angelangt, womit eine begrenzte Dosiswirkung des HCG auf das Enzymmuster der NNR aufgezeigt wird. Andererseits konnte nachgewiesen werden, daß nach Injektionsdosen von 50 I E HCG die Reaktion der Fermentaktivität noch verhältnismäßig gering ist. Eine zeitliche Begrenzung des Aktivitätsanstieges ist evident. Durchschnittlich 6 Wochen nach Behandlungsende kommt es zu einem Wiederabsinken der Aktivität auf die Ausgangswerte der Kontrollgruppen.

Aus der Untersuchung der Rindenlipoide läßt sich zusammenfassend schließen, daß die verabfolgten HCG-Dosen ganz allgemein eine Belastung für die NNR der Ratten darstellt, nach welcher sie sich gemessen an der zeitlichen Kontrolle nur zögernd nach Einstellen der Injektionen erholen.

Bezüglich unserer Fragestellung (s. S. 14/15) glauben wir folgende Aussage treffen zu können:

1. Unsere Untersuchungen haben gezeigt, daß unter Anwendung der beschriebenen Versuchanordnung eine Stimulation der Fermentaktivität in der NNR durch HCG-Applikation grundsätzlich möglich ist. Dies gilt für alle von uns untersuchten Fermente.

2. Darüberhinaus konnten wir beobachten, daß die Aktivitätssteigerung in einer direkten Abhängigkeit zur Injektionsdosis steht.

3. Besonders unter Beachtung des Verhaltens der 3ß-ol-Steroid-Dehydrogenase könnte eine wesentliche funktionelle Deutung für die NNR gezogen werden:
Durch die Aktivitätssteigerung dieses im übrigen auch im Hoden, Ovar und Placenta vorkommenden Fermentes ist eine Förderung der Steroidgenese bewiesen. JIRASEK und RABOCH (1963). Somit wäre auch über den nachgewiesenen Fermentstimulationseffekt eine sekundäre positive Beeinflussung möglicherweise der adrenalen Androgene denkbar. (In diesem Zusammenhang sei auf die Abb. I S. 10 aus NIEMI and BAILLIE (1965) verwiesen.)

Vergleichende histochemische Untersuchungen bei gleicher Versuchsanordnung liegen unseres Wissens zur Zeit nicht vor.

F. ZUSAMMENFASSUNG:

Es besteht bis heute immer noch Unklarheit darüber, ob das Humane Choriongonadotropin (HCG) einen Einfluß auf die NNR-Steroidbildung und damit möglicherweise auch auf die adrenalen Androgene ausübt. In der vorliegenden Arbeit sollte die Wirkung der HCG-Behandlung auf das Fermentmuster der NNR von männlichen Ratten überprüft werden. Dabei ergaben sich im einzelnen folgende Problemstellungen:

1. Wie beeinflußt das HCG in der NNR die Aktivität einiger für die Steroidgenese notwendigen Enzyme?

2. Besteht eine direkte Abhängigkeit der Enzymaktivität von der HCG-Dosis?

3. Welche funktionelle Deutung erlauben die an der NNR auftretenden histochemischen Befunde?

Sechs verschiedenen Gruppen von männlichen Ratten wurden im Alter von jeweils 21 Tagen über den Zeitraum von drei Wochen eine Gesamtdosis von 300 I E HCG (im Falle der ersten Gruppe) aufsteigend bis 1800 I E HCG (im Falle der letzten Gruppe) injiziert (s. Tab. 1). Dabei wurde die jeweilige Gesamtdosis bei jedem Versuchstier durch insgesamt sechs Injektionen erreicht.

Die NN wurde zur histochemischen Untersuchung frühestens fünf Tage nach Beendigung der HCG-Behandlung und spätestens 61 Tage nach Behandlungsende entnommen.

Folgende Fermente wurden bestimmt:

1) Lipoyl-Dehydrogenase
2) Glucose-6-Phosphat-Dehydrogenase
3) Laktat-Dehydrogenase
4) 3-ß-ol-Steroid-Dehydrogenase

5) Lipoide.

(Die Laktat-Dehydrogenase konnte wegen ungenügender und uncharakteristischer Anfärbbarkeit der Präparate nicht beurteilt werden).

Die histochemische Auswertung zeigte als wesentlichstes Ergebnis, daß die an der Steroidgenese beteiligten Enzyme der NNR auf Injektionen von verschiedenen Dosen HCG mit einer Änderung ihrer Aktivität reagieren. Hierbei beobachteten wir bei Steigerung der HCG-Dosen eine Zunahme der Fermentaktivität.

Während das Aktivitätsmaximum durchschnittlich nach HCG-Dosen von 150 I E bis 200 I E auftrat, konnten weitere Dosissteigerungen keinen sichtbaren Effekt mehr bewirken. Damit zeigte sich eine begrenzte Dosiswirkung des HCG auf das Enzymmuster der NNR.

Sechs Wochen nach Behandlungsende war bei all diesen Fermenten in der NNR in der Regel ein Wiederabsinken der Enzymaktivität zu beobachten.

Insbesondere die beobachtete Enzymaktivitätssteigerung der 3-ß-ol-Steroid-Dehydrogenase nach HCG-Applikation läßt wesentliche funktionelle Schlüsse zu:

Die Aktivitätssteigerung dieses Fermentes liefert in erster Linie den direkten Beweis einer Förderung der Steroidhormon-

synthese. In zweiter Linie wäre dadurch möglicherweise auch eine positive Beeinflussung der adrenalen Androgene durch eine hormonelle Behandlung mit dem Humanen Chorion-gonadotropin denkbar.

G. LITERATURVERZEICHNIS

1. ALLEN, J.M.: A chemical and histochemical study of DPN - diaphorase activity in the adrenal cortex of the developing mouse. Anat. Rec. 134, (1959): 385 - 395

2. ALLEN, J.M.: A histochemical study of 3(ß)-Sterol dehydrogenase in the adrenal cortex of the developing mouse. Anat. Rec. 137, (1960): 57 - 63

3. BEHRMAN, S.J. and NIEMANN, Ph.: Serum gonadotrophins in normal and abnormal pregnancy; function and action of chorionic gonadotrophin hormones. Fertility and Sterility 6, (1955): 415 - 421

4. BLOCH, E., TISSENBAUM, B., RUBIN, B.L. and DEANE, H.W.: Δ^5-3ß-Hydroxysteroid dehydrogenase activity in human fetal adrenals. Endocrinology 71, (1962): 629 - 632

5. BORELL, U., DICZFALUSY, E. and WESTMAN, A.: On andromimetic action of adrenals of immature hypophysectomized-gonadectomized rats. Acta endocrin. 8, (1951): 116 - 124

6. BOTELLA LLUSIA, J.: Neue Untersuchungen über die sexuelle Nebenniere. Gynaecologia (Basel) 133, (1952): 79 - 87

7. BOTELLA LLUSIA, J.: Nebenniere und Genitale. Arch. f. Gynäk. 183, (1953): 73 - 130

8. BÜHNER, P., RINDT, W. und OERTEL, G.W.: Wirkung von Gonadotropinen auf die Nebennierenrinde. I. Mitteilung: Einfluß von Serumgonadotropin auf Plasmasteroide des normalen und des kastrierten Meerschweinchens. Endokrinologie 51, (1967): 303 - 305

9. CAVALLERO, C.G. and CHIAPPINO, G.: Histochemical studies on steroid-3ß-ol-dehydrogenase and other enzymes of the adrenal cortex. Hormonal Steroids, Biochemistry, Pharmacology and Therapeutics: Proceedings of the First International Congress on Hormonal Steroids 2, (1965): 607 - 613

10. DAVIDSON, CH.S. and MOON, H.D.: Effect of adrenocorticotropic extracts on accessory reproductive organs of castrate rats. Proc. Soc. Exper. Biol. + Med. 35, (1936), 281 - 282

11. DICZFALUSY, E., HOLMGREN, H.J. and WESTMAN, A.: Action of human chorionic gonadotropin preparations on adrenals and testicles of hypophysectomized immature rats. Acta endocrin. 5, (1950): 43 - 53

12. DINERSTEIN, J. and LANMAN, J.T.: Lack of a direct adrenotropic action of chorionic gonadotropin on the rat adrenal. Endocrinology 68, (1961): 164 - 165 NOTES and COMMENTS

13. DÖRNER, G.: Über die Wirkung isolierter und kombinierter ACTH- und Chorion-gonadotropingaben auf die Nebennierenrinde kastrierter Rattenmännchen. Vitamine und Hormone, 8, (1960): 415 - 420

14. FERIN, J. et DEVIS, R.: Les effets de la gonadotrophine choriale chez la femme ovariectomisée. Ann. d'endocrin. 10, (1949): 563 - 566

15. FRASCHINI, F., GAVAZZI, G. and GIULIANI, G.: Observations on the action of some steroids derived from testosterone and the adrenal level. Hormonal Steroids, Biochemistry, Pharmacology and Therapeutics: Proceedings of the First International Congress on Hormonal Steroids 2, (1965): 325 - 331

16. FRASER, R.W., FORBES, A.B., ALBRIGHT, F., SULKOWITCH, H. and REIFENSTEIN, E.C.: Colorimetric assay of 17-ketosteroids in urine, survey of use of this test in endocrine investigation, diagnosis and therapy. J. Clin. Endocrin. 1, (1941): 234 - 256

17. GLOCK, G.E. and Mc. LEAN, P.: Levels of enzymes of direct oxidative pathway of carbohydrate metabolism in mammalian tissues and tumors. Biochem. J. 56, (1954): 171 - 175

18. GRANT, J.K.: The biosynthesis of the adrenocortical steroids. Biochem. Soc. Symposia: 18 Adrenocortical Steroids, Cambrigde University Press Cambrigde, England (1960): 24 - 39

19. GREENBERG, L.J. and GLICK, D.: Studies in histochemistry. LX Quantitative histochemical distribution of glucose-6-phosphate and 6 phosphogluconate dehydrogenases in rat adrenal, and the influence of adrenocorticotropic hormone. J. Biol. Chem. 235, (1960), 3028 - 31

20. GREEP, R.O., van DYKE, H.B. and CHOW, B.F.: Gonadotropins of swine pituitary; various biological effects of purified thylakentrin (FSH) and pure metakentrin (ICSH) Endocrinology 30, (1942): 635 - 649

21. HAMMERSTEIN, J., FOERDER, E. und OBRECHT, V.: Beeinflussung der Steroidausscheidung des Menschen durch Choriongonadotropin. Acta endocrin. 31, (1959): 505 - 522

22. HAYNES, R.C. and BERTHET, L.: Studies on the mechanism of action of adrenocorticotropic hormone. J. Biol. Chem. 225, (1957): 115 - 124

23. HOWARD, R.P., SNIFFEN, R.C., SIMMONS, F.A. and ALBRIGHT, F.: Testicular deficiency: Clinical and pathologic study. J. Clin. Endocrin. 10, (1950): 121 - 186

24. JIRASEK, J.E. und RABOCH, J.: Histochemische Hodenbefunde bei einigen endokrinen Störungen. Endocrinologie 44, (1963): 39 - 49

25. KARLSON, P.: Kurzes Lehrbuch der Biochemie für Mediziner und Naturwissenschaftler. 5. Auflage, Stuttgart, THIEME 1966

26. KELLER, M. und HAUSER, A.: Die Phenolsteroidausscheidung bei Kastratinnen nach ACTH-Belastung. Gynaecologia 137, (1954): 255 - 259

27. KELLER, M. und HAUSER, A.: Die Wirkung von Choriongonadotropin auf die Nebennierenrinde bei Kastratinnen. Gynaecologia 143, (1957): 381 - 386

28. KITAY, J.I.: Effects of testosterone on pituitary corticotropin and adrenal steroid secretion in male and female rats. Acta endocrin. 43, (1963): 601 - 608

29. KNORR, D.: Die Wirkung von Choriongonadotropin auf den Steroidhormonstoffwechsel des Kindes. Acta endocrin. 44, (1963): 1 - 76

30. KOVACIC, N.: Investigations concerning the mechanism of adrogenic hormone secretion by the adrenals in adrenal cortical hyperplasia caused by failure in glucocorticoid synthesis. Third Acta endocrinol. Suppl. 38, (1958): 59 - 60

31. KUHN, CH. and KISSANE, M.: Quantitative histochemistry of glucose-6-phosphate dehydrogenase and 6-phosphogluconate dehydrogenase in rat adrenal cortex: effect of ACTH, Cortisone and Sodium Deprivation. Endocrinology 75, (1964): 741 - 746

32. LANMAN, J.T.: The adrenal fetal zone: its occurence in primates and a possible relationship to chorionic gonadotrophin. Endocrinology 61, (1957): 684 - 691

33. LANMAN, J.T. and DINERSTEIN, J.: The adrenotropic action of human pregnancy plasma. Endocrinology 64, (1959): 494 - 502

34. LEVIN, L.: The effects of several varieties of stress on the cholesterol content of adrenal glands and of the serum of rats. Endocrinology 37, (1945): 34 - 43

35. LEVY, H., DEANE, H.W. and RUBIN, B.L.: Visualization of steroid-3ß-oldehydrogenase activity in tissues of intact and hypophysectomized rats. Endocrinology 65, (1959): 932-943

36. LIEBEGOTT, G.: Studien zur Orthologie und Pathologie der Nebennieren. Beitr. path. Anat. 109, (1947): 93 - 178

37. MATTIOLI, G. et MONETA, E.: Il Fracionamento Cromatografico dei 17-Chetosteroidi prima e dopo somministrazione di Gonadotropine Chorioniche in alcune donne castrate. Annali di ostetricia e ginecologica 84, (1962): 518 - 525

38. MOORMANN, J.G.: Histochemische Untersuchungen bei der Lageanomalie des Hodens nach Behandlung mit Humanem Choriongonadotropin (HCG) im Tierexperiment und am Klinischen Krankengut. (1969), Habilitationsschrift 1969 Homburg-Saar, im Druck

39. NICANDER, L.: Histological and histochemical studies on the adrenal cortex of domestic and laborytory animals. Acta anat. (Supp 16), 14, (1952): 1-88

40. NIEMI, M. and BAILLIE, A.H.: 3-ß-Hydroxysteroid dehydrogenase activity in the human foetal adrenal cortex. Acta endocrin. 48, (1965): 423 - 428

41. NIEMI, M. and IKONEN, M.: Cytochemistry of oxidative enzyme systems in the Leydig cells of the rat testis and their functional significance. Endocrinology 70, (1962): 167 - 174 zit. nach MOORMANN 1969

42. OPSAHL, J.C., LONG, C.N.H. and FRY, E.G.: Chorionic gonadotrophin, ACTH, and adrenal-hyaluronidase relationship: Yale J. Biol. Med. 23, (1951): 399 - 406

43. PEARSE, A.G.E.: Histochemistry, theoretical and applied. LTD London: J. a. A. Churchill 1960.

44. POPJACK, G.: Lipids of the rat adrenal in schock caused by experimental injury. J. Path. Bact. 56, (1944): 485 - 496

45. REIFENSTEIN, E.C., FORBES, A.P., ALBRIGHT, F., DONALDSON, E. and CARROL, E.: Effect of methyltestosterone on urinary 17-ketosteroids of adrenal origin. J. Clin. Investigation 24, (1945): 416 - 434

46. ROULET, F.: Methoden der pathologischen Histologie. WIEN, SPRINGER, 1948

47. RUBIN, B.L. and DORFMAN, R.I.: Quantitative assay of the 3ß-ol-Dehydrogenase system in whole adrenal homogenate. Endocrinology 61, (1957): 601 - 610.

48. SAMUELS, L.T. and HELMREICH, M.L.: The influence of chorionic gonadotropin on the 3ß-oldehydrogenase activity of testes and adrenals. Endocrinology, 58, (1956): 435 - 442

49. SAMUELS, L.T., HELMREICH, M.L., LASATER, M.B. and REICH, H.: An enzyme in endocrine tissue which oxidizes Δ^5-3-Hydroxysteroids to α, ß unsurated ketones. Science 113, (1951): 490 - 491 zit. nach Samuels and Helmreich, 1956.

50. SANTOZ-RUIZ, A., GOMEZ MAESTRO, D.V. et BOTELLA LLUSIA, J.: Excretion of 17-ketosteroids after the injection of chorionic gonadotropin. Acta Ginecologica 2, 103, 1951, Abstr. in Fert. Sterility 3, (1951): 195

51. SAYERS, G. and SAYERS, M.A.: Pituitary-adrenal system. Recent Progress in Hormone Research II, (1948): 81 - 115

52. SCARPELLI, D.H., HESS, R. and PEARSE, A.G.E.: The cytochemical localization of oxidative enzymes. I. Diphosphopyridine nucleotide diaphorase and triphosphopyridine nucleotide diaphorase. J. Biophys. Biochem. Cytol. 4, (1958): 747 - 760

53. SEGALOFF, A., STERNBERG, W.H. and GASKILL, C.J.: Effects of luteotropic doses of chorionoc gonadotropin in women. J. Clin. Endocrin. 11, (1951): 936 - 944

54. SYMINGTON, T., CURRIE, A.R., CURRAN, R.C., DAVIDSON, J.N.: in: Human adrenal cortex. Ed. by G.E.W. WOLSTENHOLME and M.P. CAMERON, s. 70 ff. LONDON: CHURCHILL (1955)

55. STERNBERG, W.H., SEGALOFF, A. and GASKILL, C.J.: Influence of chorionic gonadotropin on human ovarian hilus cells (Leydig-like cells). J. Clin. Endocrin. 13, (1953): 139 - 153

56. TELEGDY, G., HERGENRODER, A. and LISSAK, K.: Further oberservation on the effect of the sexual hormone on the adrenal-steroid secretion in the dog. IInd Intern. Congr. Hormonal Steroids, Milan 1966, 250 Excerpta Med. Found.

57. TONUTTI, E.: Über die strukturelle Funktionsanpassung der Nebennierenrinde. Endokrinologie 28, (1951): 1- 15

58. TONUTTI, E.: Experimentelle Untersuchungen zur Pathophysiologie der Nebennierenrinde. Verh. dtsch.Ges.path. 36, (1952): 123 - 158

59. TONUTTI, E.: Die Nebennieren. Kaufmann: Speziell pathol. Anatomie 1/2: 1346 ff. Berlin: de Gruyter-Verlag 1956

60. TUCHMANN-DUPLESSIS, H.: Hormones hypophysaires somatrope et corticotrope. Paris (1956): 186 ff. Paris: Masson 1956

61. WALLRAFF, J.: Leitfaden der Histologie des Menschen. 6. Aufl. Urban und Schwarzenberg, München-Berlin 1963

62. WATTENBERG, L.W.: Microscopic histochemical demonstration of steroid-3ß-ol-dehydrogenase in tisue sections. J. histochem. cytochem. 6, (1958): 225 - 232

63. WEAVER, G. and LANDAU, B.R.: Contribution of the pentose cycle to glucose metabolism by adrenal cortex in vitro. Endocrinology 73, (1963): 640 - 646

64. ZWEMER, R.L.: A study of adrenal cortex morphology. Amer. J. Path. 12, (1936): 107 - 114

Herrn Professor Dr. med. J.G. Moormann danke ich für die freundliche Zuweisung des Themas, für die Beratung bei der Anfertigung dieser Arbeit sowie für die Überlassung der Versuchstiere und des histochemischen Materials.

LEBENSLAUF

Am 10. März 1946 wurde ich in Homburg-Saar als Tochter des Dipl.-Kaufmanns Dr. Paul Weber und seiner Ehefrau, Dipl.-Handelslehrerin Liselotte Weber, geb. Korn, geboren.

Meine Schulausbildung schloß ich mit der Reifeprüfung am 5. Februar 1965 in Homburg-Saar am Staatlichen Mädchenrealgymnasium ab.

Im Sommer des gleichen Jahres begann ich mit dem Studium an der Medizinischen Fakultät der Ruprecht-Karl-Universität Heidelberg, wo ich 1966 das Vorphysikum ablegte. 1968 bestand ich an der Universität des Saarlandes das Physikum.

Die klinische Ausbildung des Medizinstudiums setzte ich an der Universität Wien und zuletzt an der Universität des Saarlandes fort, wo ich am 3. August 1971 das Staatsexamen absolvierte.

Seit 1. Januar 1972 bin ich als Medizinalassistentin an den Städtischen Krankenanstalten Winterberg Saarbrücken tätig.